潜在性 CCl_4 中毒ウサギに及ぼす CHCl_3 および $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ の作用

華 表 宏 有*, 原 島 進*

EFFECTS OF CHCl_3 AND $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ON INAPPARENTLY CCl_4 POISONED RABBITS

Hiroaki KAHYO* and Susumu HARASHIMA*

Summary

The experiment with rabbits was to show whether CHCl_3 and $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ were effective or not as the secondary or booster exposure of detecting inapparent industrial poisoning of CCl_4 .

Results were as follows.

(1) There appeared no change at all in plasma GPT activities when CHCl_3 at 0.1 cc/kg was administered to the normal rabbits. And after repeated administrations of a small dose of CCl_4 for 5 weeks, there was no change in GPT activities either. Receiving booster injection of a single dose of CHCl_3 at 0.1 cc/kg the animals reacted to the dose by an apparent increase of plasma GPT activities this

潜在性工業中毒の検出方法として、原島¹⁾は、ある場合に第二次負荷法が有効であることを発表している。この第二次負荷法による潜在性工業中毒の検出方法に関する実験的研究の結果、現在までのところ、マウスにおける CS_2 中毒^{2~4)}、ウサギにおける CCl_4 中毒⁵⁾ においてこの方法が有効であることが判明している。このほか、マウスにおける CO ガス及びベンゼン曝露についても第二次負荷として、高濃度 CS_2 、高熱などを用いた同様の実験が行われているが、この種の二次的負荷条件では、これらの毒物の潜在性中毒の存在は、現在のところ、まだ実験的に検出されていない。

さきに華表⁵⁾はウサギの CCl_4 少量反復投与実験において、生体反応の指標として血漿 GPT 活性値（以下

time. This result implies that CHCl_3 was effective as a secondary or booster exposure to detect the inapparent poisoning of CCl_4 .

(2) There was no change in plasma GPT activities when 50% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ at 10 cc/kg was subcutaneously injected to the chronically CCl_4 poisoned rabbits. This result meant that $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ was not effective as a secondary or booster exposure to detect the inapparent poisoning of CCl_4 .

(3) The authors discussed that CCl_4 and CHCl_3 were effective as the secondary or booster exposure to detect the inapparent poisoning of CCl_4 , and that the action of CCl_4 and CHCl_3 upon the inapparently poisoned animals had not yet been confirmed.

GPT と略) をもちい、かつ、第二次負荷として同じく CCl_4 のやや大量を用い、同一ウサギの正常時における同量の CCl_4 1 回投与時の GPT と比較し、ウサギの CCl_4 中毒において、その潜在性中毒の存在が実験的に証明されたと報告した。

著者らは引きつづいて、同じくウサギの CCl_4 中毒において、第二次負荷として CCl_4 以外の物質としてクロロホルム (CHCl_3) 及びエチルアルコール ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) を用いて同様の実験を行い、若干の知見を得たのでここに報告する。

実 験 計 画

今回の実験計画は以下に行なった。即ち、

- A) 第二次負荷として CHCl_3 を用いた場合には、
i) あらかじめ、正常ウサギに CHCl_3 適当量を1回投与した場合の GPT の変動を観察し、ii) つづいて CCl_4 少量反復皮下投与によって、このウサギを潜在性

* 慶応大学医学部衛生学公衆衛生学教室 (主任: 原島 進教授)
昭和39年12月22日受付、普通掲載

* From the Dept. of Preventive Medicine and Public Health (Chief: Prof. S. Harashima), School of Medicine, Keio University. Received for publication, 22 Dec., 1964.

中毒状態におき, iii) 適当な時期に第二次負荷として正常時に投与したのと同量の CHCl_3 を1回投与して, その時の GPT の反応程度を正常時の反応値と比較し, 潜在性中毒状態にあったかどうかを判定する。iv) さらに回復程度をみるために, 一定期間放置したあと, 前回と同量の CHCl_3 を1回投与し, GPT の変動をみる。

B) $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ を第二次負荷として用いたときには, 同一のウサギを全経過追跡して GPT の変動を観察せず, 正常時における $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 1回投与による GPT の反応は, CCl_4 中毒ウサギとは別のウサギを用いて予備実験の段階で行なった。この理由は, 後述するように, 正常ウサギに致死量に近い大量の $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ を1回投与しても GPT の変動はほとんどなく, あっても一過性に軽度上昇するだけであることが予備実験から確認され, その結果 CCl_4 中毒ウサギの負担をなるべく軽減するために, 正常時の $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 投与を省略した方が, 実験計画上, 賢

明と考えたからである。

実験方法

1) 実験動物は市販の雄ウサギを用いた。飼育方法, CCl_4 の投与方法, 採血方法及び GPT 測定法は, さきの場合⁵⁾ と全く同じである。

2) CHCl_3 を投与する場合には, 毎回注射する直前に, 全体積で 0.25 cc/kg になるように特級 CHCl_3 を流動パラフィン (比重 $0.84 \sim 0.875$) にとかして, これを背部皮下に注射した。なお CHCl_3 投与量は予備実験の成績から 0.1 cc/kg とした。

3) $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ を投与する場合は, 50% 水溶液にして背部皮下に数カ所分割して注射した。また $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ の第二次負荷としての投与量は, 予備実験の成績から, 50% 水溶液で 10 cc/kg (即ち $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ は 5 cc/kg) とした。この量を正常ウサギに投与すると, 大抵, 十数分後に

Fig. 1 Change of GPT activity by single administration of 0.1 cc/kg CHCl_3

Fig. 2 Effect of a large dose of CHCl_3 on chronically poisoned rabbits with smaller amounts of CCl_4

は横転し、体温は下降し、4～5時間はそのまの姿で起き上がることができないでいる。しかし GPT の変動は大して認められず、あっても投与直後に、一過性に軽度の上昇を示すだけであった。また、この 50% 水溶液で 2 倍の 20 cc/kg を 1 回投与したウサギは、数時間後に死亡した。

実験成績

1) (図 1, 2, 3, これらの図を通じて同じ符号は同一のウサギを表わす) 正常状態にあるウサギ 3 羽に、20 日間隔で 2 回、 CHCl_3 0.1 cc/kg 皮下注射したところ、1 羽に、第 1 回目の投与によって GPT の中等度の上昇がみられた。他の 2 羽では、2 回とも GPT に何らの変化もみとめなかった (図 1)。

ついで CHCl_3 の第 2 回投与後 15 日目から、 CCl_4 の少量反復投与を開始した。即ち CCl_4 0.0075 cc/kg ずつ、週 3 回、連続 5 週間反復投与し、1 週ごとに GPT を測定したが、3 羽とも、最後まで GPT 及び体重に著明な変化をみとめなかった。最後の CCl_4 投与後 2 日目に、第二次負荷として CHCl_3 0.1 cc/kg を 1 回投与したところ、うち 2 羽において GPT の著明な上昇がみとめられた。また他の 1 羽では、正常時に比較して軽度の

上昇がみとめられた (図 2)。

生体の回復程度をみるため、その後約 2 カ月間放置したのち、再び CHCl_3 0.1 cc/kg 投与したが、GPT には正常時と同様、とくに変化をみとめなかった。

2) (図 4 (a), (b), これらの図を通じて同じ符号は同一のウサギを表わす) 潜在性 CCl_4 中毒をおこさせる目的で、正常ウサギ 4 羽に CCl_4 0.0075 cc/kg ずつ週 3 回、4 週間反復投与を行なった。この間、1 週ごとに GPT を測定したが、終りまで体重と共に何らの変化をみとめなかった。最後の CCl_4 投与後 2 日目に、第二次負荷として 50% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 10 cc/kg 皮下注射し、経過を追って GPT の変動を観察したが、うち 1 羽において、投与後 6 時間後に一過性の軽度上昇を認めたのみで、 $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 投与によっては、上記の CHCl_3 投与時におけるような GPT の著明な変動をみることができなかった (図 4 (a))。

あらためて $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 投与後 8 日目より、再び CCl_4 0.0075 cc/kg ずつ週 3 回、4 週間にわたって反復投与し、1 回目と同様、最後の CCl_4 投与後 2 日目に 50% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 10 cc/kg 皮下注射した。この時も 1 回目と同一の 1 羽において、一過性の GPT 軽度上昇をみとめたのみであった。なお、うち 1 羽はこの 2 回目の $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 投与後、24 時間以内に死亡した。

考 按

1) CHCl_3 の生体に対する作用と二次的負荷物質としての意義: CHCl_3 の生体に対する作用としては、一般に中枢神経麻酔作用があげられているが、 CCl_4 と共に肝臓に対する毒物としても広く知られている (6~8)。 CHCl_3 投与による各種血清酵素の上昇についての実験的

及び臨床的報告もだされている^{9,10)}。CHCl₃ はハロゲン化炭化水素化合物中、化学構造的に CCl₄ と最もよく類似しており、かつ、肝臓に及ぼす作用も CCl₄ について強力であることが知られている^{8, 11, 12)}。

著者らの予備実験でも、正常ウサギに対して CHCl₃ 0.1~0.2 cc/kg 投与で、GPT の軽度上昇がみとめられた。

上記の実験成績にみるように、潜在性 CCl₄ 中毒を検証しうる化学的な二次的負荷物質として、CCl₄ 以外に CHCl₃ も有効であることが明らかとなった。しかし、その作用機序については明らかでなく、今後の研究課題として残されている。

2) C₂H₅OH の生体に対する作用と二次的負荷物質としての意義：C₂H₅OH は CHCl₃ 等と共に、広く『脂肪列の麻酔薬』と呼ばれることもあるが、一般には中枢神経興奮薬として知られている¹³⁾。C₂H₅OH は肝臓に対して第一義的に作用する物質ではなく、化学構造的にも前述の CHCl₃ と比較して、CCl₄ との類似性は極めてうすい。

著者らが潜在性 CCl₄ 中毒検出のための二次的負荷物質として C₂H₅OH に注目したのは、最近、諸外国で臨床的に、慢性アルコール中毒患者及びトリクロールエチレン曝露作業者に対して、大量のアルコールを飲用させると、一過性に血清の GOT が上昇することを指摘した報告があるからである^{14, 15)}。しかし著者らの動物実験では、潜在性 CCl₄ 中毒検出の二次的負荷物質として、C₂H₅OH は CCl₄ 及び CHCl₃ のようには有効でないことが判明した。なお、この作用機序については CHCl₃ の場合と同じく不明である。

3) 潜在性 CCl₄ 中毒を検出しうる二次的負荷物質の種類：現在までの実験成績から、潜在性 CCl₄ 中毒を検出しようとする場合、同一物質の CCl₄ 以外に、化学構造上類似した CHCl₃ でも有効であるが、化学構造上、全く別のものであると云ってよい C₂H₅OH では、有効ではないことが判明した。

この事実から、次の研究課題として、潜在性 CCl₄ 中毒検出のための二次的負荷物質として、ハロゲン化炭化水素化合物の中で、化学構造的にどの範囲のものまでが有効であるのか検討することが挙げられよう。しかし既述したように、ある種の潜在性中毒状態がその曝露物質に、化学構造上、ある範囲内で関連性をもった二次的負荷物質によって検出される生体内での作用機序については、現在、全く憶測の域を出ず、この問題は今後、系統的な検索によって明らかにされるべきものであることを

指摘しておく。

要 約

ウサギにおける潜在性 CCl₄ 中毒の検出に有効な二次的負荷物質を検索する目的で、CHCl₃ 及び C₂H₅OH を用いて実験を行なった。

1) 正常時に CHCl₃ 0.1 cc/kg 投与しても、血漿 GPT 活性値 (GPT) に何らの変化をきたさないウサギに対して、CCl₄ 少量反復投与後に、二次的負荷として正常時と同量の CHCl₃ を投与すると、GPT は著明に上昇した。これは潜在性 CCl₄ 中毒を検出する二次的負荷物質として、CHCl₃ が有効であることを示している。

2) しかし、潜在性 CCl₄ 中毒ウサギに二次的負荷として 50% C₂H₅OH 10 cc/kg を皮下注射しても、GPT には何らの変化をきたさなかった。これは潜在性 CCl₄ 中毒を検出するための二次的負荷物質として、C₂H₅OH が有効でないことを示している。

3) 潜在性 CCl₄ 中毒を検出するための二次的負荷物質として、CCl₄ と共に CHCl₃ は有効であるが、化学構造上異なった C₂H₅OH は有効でない事実を、これらの物質の作用機序から説明することは、今後の研究課題であることを論じた。

本研究の費用の一部は、昭和39年度文部省総合研究費によったことを誌して、感謝する。

文 献

- 1) 原島 進：第15回日本医学会 総会学術集会 記録 1; 335, 昭34.
- 2) 中元藤茂：日本衛生学雑誌 15; 156, 昭35.
- 3) 原島 進・他：産業医学 4; 210, 昭37.
- 4) 増田義徳・他：日本衛生学雑誌 18; 345, 昭38.
- 5) 華表宏有：産業医学 6; 55, 昭38.
- 6) Popper, H. et al.: Liver, Structure and Function, Mcgraw Hill, New York, 1957.
- 7) Schiff, L. (ed): Diseases of the Liver, J. B. Lippincott Co. Philadelphia, 1963.
- 8) Plaa, G. L. et al.: J. Pharmacol. Exptl. Therap., 123; 224, 1958.
- 9) Kylin, B. et al.: Acta Pharmacol., 20; 16, 1963.
- 10) Reichard, H. et al.: Acta Obst. et Gynec. Scandinav., 39; 661, 1960.
- 11) 池田良雄：薬物致死量集, 南山堂, 昭28.

- 12) Irish, D. D.: Arch. Environ. Health, 4;
320, 1962.
13) 森島庫太: 薬理学, 南江堂, 昭30.
14) Bang, N. U. et al.: J. A. M. A., 168; 156,

1958.

- 15) Lachnit, V. et al.: Industr. Med. and Surg.,
30; 523, 1960.

新 入 会 者

社団法人 日本産業衛生協会

【東北地方会】

岩 手 田中 領三 岩手医科大学衛生学公衆衛生学教室

【関東地方会】

東 京 安斎 育郎 東京大学医学部放射線健康管理学教室

〃 飯島 陽子 〃 附属病院分院内科
〃 市川 義孝 オートライフCo. 研究室(港区芝)
〃 今堀 彰 東京大学医学部放射線健康管理学教室

〃 岡本 覚一 興研KK(千代田区)
〃 甲田 明子 東京大学医学部附属病院分院内科
〃 小林太刀夫 〃 〃 〃
〃 鈴木 清 東京医科歯科大学医学部第2内科
〃 松崎 俊久 東京大学医学部附属病院分院内科
〃 森沢 康 〃 〃 〃

【東海地方会】

三 重 柏木 秀雄 三重県立大学医学部高安内科

【近畿地方会】

京 都 橋本 和平 京都大学工学部衛生工学教室
大 阪 伊藤 勝啓 大阪府立公衆衛生研究所
〃 由谷 聡至 〃
和歌山 奥野 千里 和歌山医科大学衛生学公衆衛生学教室

〃 宮地 典子 〃 〃

【中国地方会】

岡 山 角 一雄 岡山大学医学部平木内科学教室

【九州地方会】

福 岡 藤本 学幹 八幡製鉄所病院保健衛生課

2 月 入 会 者

(紹介者)

【東北地方会】

宮 城 高木 晴美 東北大学医学部鳥飼内科
(高橋英次)
〃 前橋 賢 〃 (〃)

【関東地方会】

東 京 大谷 誠二 東洋レーヨンKK愛知工場
附属病院長 (皿井 進)
〃 手塚 羔治 東京電機大学 (三浦豊彦)

誤文訂正 本誌第7巻第1, 2号掲載の12月入会者及び1月入会者のうち, つぎの方々の所属に誤りがあったので, 訂正し, おわび致します。

(1月号 47ページ)

【関東地方会】

新井光子 労働衛生研究所労働生理第一研究室 労働科学研究所労働生理第一研究室

(2月号 26ページ)

【関東地方会】

岩崎繁野 労働衛生研究所海上労働研究室 労働科学研究所海上労働研究室

訂 正